



HAL
open science

Prévalence des mutations de l'opéron RamAR associées à un phénotype de résistance croisée aux antibiotiques chez les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu, isolées au sein des services de réanimation du CHU de Caen

Alice Michel, Bénédicte Langlois, Simon Le Hello, François Gravey

► To cite this version:

Alice Michel, Bénédicte Langlois, Simon Le Hello, François Gravey. Prévalence des mutations de l'opéron RamAR associées à un phénotype de résistance croisée aux antibiotiques chez les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu, isolées au sein des services de réanimation du CHU de Caen. Journée Normande de Recherche Biomédicale (JNRB 2022), Jun 2022, Rouen, France. hal-04034388

HAL Id: hal-04034388

<https://normandie-univ.hal.science/hal-04034388>

Submitted on 17 Mar 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Prévalence des mutations de l'opéron RamAR associées à un phénotype de résistance croisée aux antibiotiques chez les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu, isolées au sein des services de réanimation du CHU de Caen

Alice Michel^a, Bénédicte Langlois^a, Simon Le Hello^{a,b}, François Gravey^{a,b}

^a Unité Inserm 1311 DYNAMICURE, UNICAEN-Université de Rouen Normandie, ^b Département de Microbiologie Clinique, CHU de Caen, France

RÉSUMÉ

Les entérobactéries productrices de BLSE (E-BLSE) constituent un problème de santé publique majeur, induisant une augmentation du taux de mortalité. Les entérobactéries peuvent s'adapter à leur hôte et/ou à l'environnement hospitalier grâce à divers mécanismes, en particulier grâce à la modification d'expression de systèmes d'efflux, leur conférant une résistance à un large panel d'antibiotiques.

AcrAB-TolC est une pompe « résistance-nodulation-division » (RND) en partie régulée par un système à deux composants : l'opéron RamAR. Des mutations au sein de cet opéron entraînent une surexpression de cette pompe induisant un phénotype de résistance croisée aux quinolones, tigécycline, chloramphénicol et témocilline.

Le but de cette étude était de déterminer la prévalence des mutations au sein de l'opéron RamAR entraînant un phénotype de résistance croisée (PRC) parmi les E-BLSE isolées et séquencées au CHU de Caen.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Au cours des années 2019, 2020 et 2021, nous avons étudié la proportion de PRC associés à une mutation chez l'opéron RamAR parmi les E-BLSE isolées à partir de patients admis en service de réanimation au CHU de Caen^(1,2).

- ✓ Toutes les E-BLSE premièrement isolées chez des patients admis dans les services de réanimation médicale, chirurgicale ou pédiatrique de 2019 à 2021 ont été collectées et leur génome a été séquencé par Illumina.
- ✓ Les PRC à la ciprofloxacine, tigécycline, témocilline et chloramphénicol ont été recherchés par détermination des CMI via la méthode de microdilution décrite par l'EUCAST.
- ✓ Pour chaque souche présentant un PRC aux 4 molécules, les CMI ont été déterminées en présence de pABN à une concentration de 20mg/L afin de mettre en lumière l'implication d'une pompe à efflux RND dans le PRC observé.
- ✓ En parallèle, les mutations au sein de l'opéron RamAR ont été recherchées pour l'ensemble des souches séquencées.
- ✓ Finalement, les données phénotypiques et génomiques ont été confrontées afin de déterminer les mutations de RamAR significatives, en lien avec le PRC.

RÉSULTATS

Au total, 426 E-BLSE ont été incluses. 24 souches présentaient un PRC comprenant des souches d'*Enterobacter cloacae* (12/133) et *Klebsiella pneumoniae* (12/137). Aucune souche d'*Escherichia coli* sur les 156 ne présentait le PRC recherché. Les CMI étaient légèrement diminuées en présence de pABN, suggérant une dérégulation des pompes RND (**TABLEAU 1**). Pour l'ensemble des souches, le résistome ne permettait pas d'expliquer les CMI justifiant d'une sensibilité diminuée aux 4 molécules, cependant 20 d'entre elles présentaient une mutation au niveau du gène *ramR*. Les mutations telles que des substitutions nucléotidiques ou délétions étaient spécifiques aux souches résistantes et affectaient le domaine helix-turn-helix de la protéine, induisant une incapacité de RamR à se lier à l'ADN et à inhiber l'expression de *ramA*.

Tableau 1 : Caractéristiques des 24 E-BLSE présentant un PRC à la CIP, CHL, TEM et TIG

Espèce	Souche	cgMLST	CMI (mg/L)				Résistome				Modification(s) de RamR			
			CIP	CHL <i>Seul</i>	TEM	TIG	CIP	CHL <i>pABN (20mg/L)</i>	TEM	TIG		B-lactamines	Quinolones	CHL
<i>Enterobacter cloacae</i>	ECC_2019_0808	ST 66	16	32	16	2	8	4	64	1	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr, qnrB1	/	-
	ECC_2019_0903	ST 66	16	32	16	2	8	4	32	1	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr, qnrB1	/	-
	ECC_2019_0904	ST 66	8	32	16	2	4	4	32	1	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr, qnrB1	/	-
	ECC_2019_0609	ST 66	16	32	16	4	8	4	16	1	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr, qnrB1	/	P.V1W fs D81**
	ECC_2019_1003	ST 66	16	32	16	4	8	4	32	1	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr, qnrB1	/	P.V1W fs D81**
	ECC_2019_0501	ST 106	4	32	32	4	2	4	32	2	SHV-12	/	/	p.29_32del
	ECC_2019_0702	ST 114	256	>256	32	4	64	128	16	1	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr, qnrB1, gyrA-S83L	/	p.1_69del
	ECC_2021_0802	ST 66	16	16	16	4	4	2	Non testé	1	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr, qnrB1	/	p.1_69del
	ECC_2020_0601	ST 66	16	16	64	2	8	2	Non testé	2	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr, qnrB1	/	P.V105A
	ECC_2020_0502	ST 568	8	32	16	2	2	4	Non testé	2	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr, qnrB1	/	p.51_69del
	ECC_2021_0401	ST 66	16	16	16	2	8	2	Non testé	1	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr, qnrB1	/	p.1_35del
	ECC_2021_0803	ST 110	128	32	32	2	32	2	Non testé	1	TEM-2	/	/	p.105_108_ins. / p.V105A / p.A106I
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KP_2019_0602	ST 15	256	64	32	4	128	4	32	2	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr, oqxA oqxB	/	p.L159Q
	KP_2019_0706	ST 15	64	16	32	2	32	< 2	32	0.5	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr, oqxA oqxB	/	p.L159Q
	KP_2019_1103	ST 45	16	16	16	2	8	32	32	1	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr, oqxA oqxB, qnrB1	/	-
	KP_2019_0626	ST 307	128	64	16	4	128	8	16	1	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr, oqxA oqxB, qnrB1	/	p.Y52N
	KP_2019_0803	ST 405	32	128	16	2	8	16	32	0.5	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr, oqxA oqxB, qnrB1	/	p.W94R
	KP_2019_0403	ST 449	0.5	128	32	4	< 0.125	8	32	1	SHV-2	oqxA oqxB	/	p.1_64del
	KP_2020_1105	ST 512	256	32	32	1	64	4	Non testé	0.5	SHV-182, KPC-3	oqxA oqxB	/	p199_200_ins.
	KP_2021_0302	ST 512	128	32	64	0,5	64	4	Non testé	0,5	SHV-182, KPC-3	oqxA oqxB	/	p199_200_ins.
	KP_2021_1001	ST 307	256	32	16	2	64	4	Non testé	1	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr, oqxA oqxB, qnrB1	/	P.K14I
	KP_2021_1005	ST 307	256	32	16	2	128	4	Non testé	1	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr, oqxA oqxB, qnrB1	/	P.K14I
	KP_2021_0808	ST 20	1	>256	32	0,5	0,25	256	Non testé	1	CTX-M-15	aac(6')-1b-cr	/	p.127_199del
	KP_2021_0510	ST 405	4	32	16	2	1	4	Non testé	1	CTX-M-15	oqxA oqxB, qnrB1	/	p.127_199del

CIP : Ciprofloxacine, CHL : Chloramphénicol, TEM : Témocilline, TIG : Tigécycline

** décalage du cadre de lecture par délétion T567 entraînant une modification de la protéine RamR (1_8 VARPSED>WHVRRVKI)

CONCLUSION

De 2019 à 2021, au sein de notre service de réanimation, approximativement 8% des *E. cloacae* et *K. pneumoniae* productrices de BLSE présentaient des mutations au sein de leur régulateur *ramR*, le rendant inactif. Ces résultats suggèrent que RamR pourrait être un important vecteur de résistance aux antibiotiques.

Références :

1. Gravey F, Cattoir V, Ethuin F, et al. *ramR* Deletion in an *Enterobacter hormaechei* Isolate as a Consequence of Therapeutic Failure of Key Antibiotics in a Long-Term Hospitalized Patient. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(10):e00962-20.
2. De Majumdar S, Yu J, Fookes M, et al. Elucidation of the RamA regulon in *Klebsiella pneumoniae* reveals a role in LPS regulation *PLoS Pathog.* 2015;11(1):e1004627.